(19) **กรมทรัพย์สินทางปัญญา**
กระทรวงพาณิชย์
เลขที่อนุสิทธิบัตร 17934

(10) **เลขที่ประกาศโฆษณา** 17934
(43) **วันประกาศโฆษณา** 25 มิถุนายน 2564
(40) **วันออกอนุสิทธิบัตร** 25 มิถุนายน 2564

(12) ประกาศโฆษณาการจดทะเบียนการประดิษฐ์และออกอนุสิทธิบัตร

(21) **เลขที่คำขอ** 1803001298
(22) **วันที่ยื่นคำขอ** 7 มิถุนายน 2561

(51) **สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ Int.Cl.10**
C12Q 1/68

(31) **เลขที่คำขอที่ยื่นครั้งแรก**
-
(32) **วันที่ยื่นคำขอครั้งแรก**
-
(33) **ประเทศที่ยื่นคำขอครั้งแรก**
-

(71) **ผู้ขอรับสิทธิบัตร**
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
(72) **ผู้ประดิษฐ์**
นายธงชัย แก้วพินิจ และคณะ
(74) **ตัวแทน**
นางสาวนิยดา รุ่งเรืองผล
ที่อยู่ 114 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ซอยสุขุมวิท 23
แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

(54) **ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์** กรรมวิธีการตรวจสอบหาเชื้อวัณโรคชนิด มัยโคแบคทีเรียม ทูเบอร์คูโลซิส (Mycobacterium tuberculosis) ด้วยแถบสีในขั้นตอนเดียว

(57) **บทสรุปการประดิษฐ์**

กรรมวิธีการตรวจสอบหาเชื้อวัณโรคชนิด *มัยโคแบคทีเรียม ทูเบอร์คูโลซิส* (*Mycobacterium tuberculosis*) ด้วยแถบสีในขั้นตอนเดียว เริ่มจากการออกแบบไพรเมอร์ 5 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสของเชื้อวัณโรคบนยีน*ไอเอส* 6110 (*IS*6110) ซึ่งโดยให้ไพรเมอร์ 1 เส้นติดฉลากด้วยไบโอติน (biotin) หรือไดกอกซิเจนิน (Digoxigenin) และให้ไพรเมอร์อีก 1 เส้นติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (FITC) ในการติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนแผ่นดิพสติค (dipstick) ในระบบนี้ดีเอ็นเอเป้าหมายจะถูกเพิ่มปริมาณภายใต้อุณหภูมิอุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที ในกล่องให้ความร้อน (heating block) แล้วอ่านผลบนแผ่นดิพสติค (dipstick) เมื่อให้ผลบวก จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู บริเวณแถบทดสอบ (T) และแถบควบคุม (C) แสดงว่า ในตัวอย่างพบเชื้อวัณโรค แต่ถ้าผลลบ จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู เฉพาะแถบควบคุม (C) เท่านั้น วิธีการนี้เทียบเท่ากับการตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) แบบเรียลไทม์ (real time) อีกทั้งยังไม่ต้องใช้เครื่องพีซีอาร์ (PCR) และเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าในการติดตามผลของปฏิกิริยา

(11) เลขที่ประกาศโฆษณา 17934

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการตรวจสอบหาเชื้อวัณโรคชนิด *มัยโคแบคทีเรียม ทูเบอร์คูโลซิส* (*Mycobacterium tuberculosis*) ด้วยแถบสีในขั้นตอนเดียวที่ซึ่งประกอบด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ร่วมกับการประยุกต์ใช้แผ่นแถบสีดิพสติค (dipstick) การทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วยไพรเมอร์ 3 และไพรเมอร์ 4 อย่างละ 50 พิโคโมล, ไพรเมอร์ 1 ไพรเมอร์ 2 และไพรเมอร์ 5 อย่างละ 5 พิโคโมล, ดีเอ็นทีพี (dNTP) 0.8 มิลลิโมลาร์ผสมด้วยสารเบตาอีน (betaine) 0.6 โมลาร์, สารแมกนีเซียมซัลเฟส ($MgSO_4$) 4 มิลลิโมลาร์, เอนไซม์ *บีเอสที* ดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส (*Bst* DNA polymerase) 8 U และสารละลายบัฟเฟอร์ ด้วยการทำปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ที่อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นดูดสารละลายดังกล่าวจำนวน 5 ไมโครลิตรใส่ในหลอดที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ 100 ไมโครลิตรที่อุณหภูมิห้อง แล้วจุ่มแผ่นดิพสติค (dipstick) ลงในสารละลาย 5 นาที แล้วอ่านผล เมื่อให้ผลบวก จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู บริเวณแถบทดสอบ (T) และแถบควบคุม (C) แสดงว่า ในตัวอย่างพบเชื้อวัณโรค แต่ถ้าผลลบ จะปรากฏเส้นทดสอบสีชมพู เฉพาะแถบควบคุม (C) เท่านั้น วิธีการนี้ใช้ในการตรวจลำดับเบสของเชื้อวัณโรคบนยีน*ไอเอส* 6110 (*IS*6110) ในผู้ป่วยที่สงสัยการติดเชื้อวัณโรคนี้ เพื่อการตรวจวินิจฉัยและป้องกันการระบาดของโรค โดยไม่ต้องใช้เครื่องพีซีอาร์ (PCR thermal cycler) และเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้า กรรมวิธีนี้ออกแบบไพรเมอร์สำหรับเทคนิคแลมป์ (LAMP) ที่ใช้ในการตรวจเชื้อวัณโรคในปฏิกิริยาแลมป์ (LAMP) ประกอบด้วยไพรเมอร์ 5 เส้น ที่จำเพาะต่อลำดับเบสของเชื้อวัณโรคบนยีน*ไอเอส* 6110 (*IS*6110) โดยให้ไพรเมอร์ 4 ติดฉลากด้วยไบโอติน (biotin) หรือไดกอกซิเจนิน (Digoxigenin) และให้ไพรเมอร์ 5 ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (FITC) ในการติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนแผ่นดิพสติค (dipstick) ดังนี้

ไพรเมอร์ 1 ลำดับเบส (5′-3′) CgATggCgAACTCAAggAg

ไพรเมอร์ 2 ลำดับเบส (5′-3′) TggCCggATCAgCgATC

ไพรเมอร์ 3 ลำดับเบส (5′-3′)

AgCCACACTTTgCgggCACTTTCACATCAgCCgCgTCC

ไพรเมอร์ 4 ลำดับเบส (5′-3′)

ไบโอติน (biotin)/ไดกอกซิเจนิน (Digoxigenin)

gAggTggCCAgATgCACCgTCTTTTggTCCTgCgggCTTTg

ไพรเมอร์ 5 ลำดับเบส (5′-3′)

FITC-ACggCTgATgAC CAAACTCg

(ข้อถือสิทธิ 1 ข้อ, รูปเขียน 2 รูป)